

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

mtk

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference <b>99/105</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. <b>PCT/EP 99/ 07002</b>	International filing date (day/month/year) <b>15/09/1999</b>	(Earliest) Priority Date (day/month/year) <b>15/09/1998</b>
Applicant <b>NIZO FOOD RESEARCH et al.</b>		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 4 sheets.  
☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

## 1. Basis of the report

- a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
- ☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).
- b. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing :
- ☒ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box I).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box II).

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No.

- ☐ as suggested by the applicant.
- ☐ because the applicant failed to suggest a figure.
- ☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup>:</b> <b>A23J 3/34, A23L 1/015</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> <b>WO 95/25437</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 28. September 1995 (28.09.95)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP95/00944 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 14. März 1995 (14.03.95)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> P 44 10 000.0      23. März 1994 (23.03.94)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; D-40191 Düsseldorf (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> VON KRIES, Edith [DE/DE]; Rilke Strasse 2, D-89257 Illertissen (DE). EIL- ERS, Eberhard [DE/DE]; 5-Bäume-Weg 42, D-89081 Ulm (DE). SANDER, Andreas [DE/DE]; Karlsbader Strasse 19, D-89257 Illertissen (DE).	<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
<b>(54) Title:</b> PROCESS FOR PRODUCING BRIGHTLY-COLOURED VEGETABLE PROTEIN HYDROLYSATES  <b>(54) Bezeichnung:</b> VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG HELLFARBIGER PFLANZLICHER PROTEINHYDROLYSATE  <b>(57) Abstract</b>  Vegetable protein hydrolysates with improved colour quality are obtained by a) extracting protein-containing vegetable flours at a pH beyond the isoelectrical range of the protein, possibly in the presence of adsorbents and b) hydrolysing the protein hydrolysate thus obtained in the presence of adsorbents with alkalis, acids and/or enzymatically in the manner known <i>per se</i> . The substances are suitable as components of surface-active agents and in the production of derivatives, e.g. possibly cationically modified condensation products with fatty acids.  <b>(57) Zusammenfassung</b>  Pflanzliche Proteinhydrolysate mit verbesserter Farbqualität werden erhalten, indem man a) proteinhaltige Pflanzenmehle bei einem pH-Wert außerhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins gegebenenfalls in Gegenwart von Adsorbentien extrahiert und b) das dabei gewonnene Proteinhydrolysat in Gegenwart von Adsorbentien in an sich bekannter Weise alkalisch, sauer und/oder enzymatisch hydrolysiert. Die Stoffe eignen sich als Bestandteile oberflächenaktiver Mittel sowie zur Herstellung von Derivaten wie beispielsweise gegebenenfalls kationisch modifizierten Kondensationsprodukten mit Fettsäuren.		

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

## Verfahren zur Herstellung hellfarbiger pflanzlicher Proteinhydrolysate

---

### Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von pflanzlichen Proteinhydrolysaten verbesserter Farbqualität, bei dem man proteinhaltige Pflanzenmehle unter definierten Bedingungen extrahiert und die resultierenden Proteinisolate anschließend in Gegenwart von geeigneten Adsorbentien in an sich bekannter Weise hydrolysiert.

### Stand der Technik

Abbauprodukte von Polypeptiden, sogenannte Proteinhydrolysate, sind seit langem bekannt. Obschon sie wegen des Fehlens einer lipophilen Gruppe keine Detergenseigenschaften besitzen, werden sie wegen ihrer dispergieren Eigenschaften und ihrer Fähigkeit, die dermatologische Verträglichkeit anionischer Tenside durch Wechselwirkung mit den Eiweißmolekülen der Haut günstig zu beeinflussen, in einer Vielzahl von oberflächenaktiven Mitteln eingesetzt. Übersichtsartikel hierzu finden sich beispielsweise von A.Domsch et al. in Ärztl.

Kosmetol. 13, 524 (1983), G.Schuster et al. in Cosmet.Toil., 99, 12 (1984) und H.Lindner in Parfüm.Kosmet., 66, 85 (1985).

Üblicherweise werden Proteinhydrolysate auf Basis von tierischem Kollagen gewonnen. In den letzten Jahren hat sich jedoch ein Trend nach pflanzlichen Produkten, beispielsweise auf Basis von Sojabohnen durchgesetzt.

Aus der französischen Offenlegungsschrift FR 2542013 (ABC) ist beispielsweise die Hydrolyse pflanzlicher Proteine mittels besonderer Milchsäurebakterien in Gegenwart von Kohlenwasserstoffen bekannt. In der US 4757007 (Nisshin) wird die partielle Hydrolyse von Sojaproteinen mit Proteasen in Fraktionen unterschiedlicher Löslichkeit in Trichloressigsäure, Trennung der Fraktionen bei einem pH-Wert von 7, Abtrennung nichthydrolysierter Anteile und Reinigung der Produkte durch Ultrafiltration beschrieben. Gegenstand der europäischen Patentanmeldung EP-A 0187048 (Novo) ist der enzymatische Abbau von Sojaproteinen durch Behandlung mit speziellen Proteasen. Aus der EP-A 0298419 (Katayama) ist die Herstellung von Proteinhydrolysaten mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 500 bis 90.000 durch schrittweisen alkalischen, sauren und/oder enzymatischen Abbau von Weizen- oder Sojaproteinen bekannt. In der EP-A 0363771 (Nestlé) wird schließlich über ein Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten berichtet, bei dem man pflanzliche Proteine mit Salzsäure hydrolysiert, nichthydrolysierte Bestandteile abtrennt, zur Zerstörung unerwünschter chlorierter Verbindungen alkalisch stellt und die resultierenden Produkte anschließend ansäuert.

Den Verfahren des Stands der Technik ist jedoch gemein, daß die resultierenden Proteinhydrolysate hinsichtlich ihrer Farbqualität nicht die Anforderungen des Marktes nach sehr wenig gefärbten Produkten erfüllen. Die Aufgabe der Erfindung hat somit darin bestanden, derartig hellfarbige Proteinhydrolysate auf pflanzlicher Basis zur Verfügung zu stellen.

### Beschreibung der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung hellfarbiger pflanzlicher Proteinhydrolysate, bei dem man

- a) proteinhaltige Pflanzenmehle bei einem pH-Wert außerhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins gegebenenfalls in Gegenwart von Adsorbentien extrahiert und
- b) den dabei gewonnenen Proteinextrakt in Gegenwart von Adsorbentien in an sich bekannter Weise alkalisch, sauer und/oder enzymatisch hydrolysiert.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß sich in proteinhaltigen Pflanzenmehlen enthaltene farbverursachende Bestandteile, insbesondere Phenole, aromatische Hydroxycarbonsäuren und Phythinsäure, durch eine Extraktion des Proteins außerhalb des isoelektrischen Bereich mit Basen oder vorzugsweise Säuren, gegebenenfalls in Gegenwart von Adsorbentien bei 30 bis 80 und vorzugsweise 40 bis 50°C abtrennen lassen. Noch in Spuren vorhandene Farbträger lassen sich schließlich entfernen, wenn man die nachfolgende Hydrolyse der Proteinisolate in Gegenwart beispielsweise von Aktivkohle durchführt.

### Pflanzenmehle

Im Hinblick auf die Durchführbarkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens ist dieses nicht an die Natur des eingesetzten Pflanzenmehles gebunden. In der Praxis wird sich die Auswahl der Einsatzstoffe jedoch in erster Linie nach Verfügbarkeit und Proteingehalt richten. Typische Beispiele sind daher Mandelmehl, Getreidemehl, insbesondere Weizenmehl, Kartoffelmehl und vorzugsweise Sojamehl sowie deren Gemische. Typischerweise verfügen die genannten, kommerziell verfügbaren Mehle über einen Proteinanteil von ca. 40 bis 50 Gew.-%.

### Extraktionsverfahren

Das erfindungsgemäße Verfahren schließt die Erkenntnis ein, daß pflanzliche Proteine in der Umgebung ihres isoelektrischen Punktes bzw. Bereiches ein Löslichkeitsminimum aufweisen. Demzufolge kann die Extraktion des Proteins aus den proteinhaltigen Pflanzenmehlen bei einem pH-Wert entweder unterhalb oder oberhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins durchgeführt werden. In der Praxis kommt beispielsweise eine alkalische Extraktion bei pH-Werten im Bereich von 8 bis 14 und vorzugsweise 8,5 bis 10 in Betracht. Im Hinblick auf die Farbqualität der resultierenden Hydrolysate hat sich jedoch eine saure Extraktion bei pH-Werten im Bereich von 1 bis 3 und vorzugsweise 2 bis 2,5 als besonders vorteilhaft erwiesen.

Zur Durchführung der Extraktion wird das Pflanzenmehl zunächst in einer ausreichenden Menge Wasser gegebenenfalls

unter Erwärmen dispergiert und dann mit einer Säure oder Base, vorzugsweise Salzsäure, Citronensäure oder Natronlauge auf den gewünschten pH-Wert eingestellt. Das Protein geht dabei in Lösung, während Kohlenhydrate, Fette und vor allem die unerwünschten potentiellen Farbträger im unlöslichen Rückstand verbleiben, der beispielsweise über Filternutschen, Filterpressen oder Separatoren vom Wertfiltrat abgetrennt werden kann.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Extraktion mehrfach durchführt, d.h., das Protein wird aus dem bei der ersten Extraktion erhaltenen Filtrat gefällt, gewaschen, in Wasser redispergiert, mit Säure oder Base erneut in Lösung gebracht und der Rückstand wieder abgetrennt. Dieses Verfahren kann grundsätzlich in beliebiger Anzahl wiederholt werden, in der Praxis hat sich jedoch gezeigt, daß mehr als drei Durchläufe zu keiner meßbaren Farbverbesserung in den Endprodukten führen. Zur Steigerung der Ausbeute können die verbleibenden unlöslichen Rückstände, gegebenenfalls nach Vereinigung, erneut extrahiert werden.

Eine weitere vorteilhafte Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht in einem pH-Wert-Wechsel während der Extraktion. Hierunter ist zu verstehen, daß man die Extraktion in zwei Stufen, d.h. zunächst im alkalischen Bereich und dann im sauren Milieu oder umgekehrt durchführt. Falls gewünscht, können die Proteinhydrolysate vor der Hydrolyse durch Ultra- und/oder Diafiltration weiter gereinigt werden; ein derartiger Schritt kann sich auch an die Hydrolyse anschließen.



Der Feststoffgehalt der nach der Extraktion erhältlichen wäßrigen Lösungen wird durch die Menge an Wasser bestimmt, die zur Dispergierung erforderlich ist und liegt in der Regel bei 5 bis 40, vorzugsweise 10 bis 20 Gew.-%. Bezogen auf den Feststoff liegt der Anteil an Pflanzenproteinen oberhalb von 80, vorzugsweise bei 90 bis 98 Gew.-%.

### Adsorbentien

Zur Entfernung von Restspuren an unerwünschten Farbverursachern hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die durch Extraktion vorgereinigten Proteinisolate zusammen mit geeigneten Adsorbentien in die Hydrolyse einzusetzen. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung können die Adsorbentien auch bereits auf der Stufe der Extraktion zugesetzt werden. Als Adsorbentien kommen beispielsweise Kieselgele, Aluminiumoxide und vorzugsweise Aktivkohlen in Betracht, die in Mengen von 0,1 bis 15, vorzugsweise 1 bis 5 Gew.-% - bezogen auf den Stickstoffgehalt der Proteinisolate - eingesetzt werden können.

### Hydrolyseverfahren

Die Hydrolyse der durch Extraktion vorgereinigten Proteinisolate kann in an sich bekannter Weise auf alkalischem, saurem und/oder enzymatischem Wege erfolgen, wobei letzterer bevorzugt ist. Hierzu wird üblicherweise eine alkalische wäßrige Suspension des Proteinisolats mit geeigneten Enzymen, beispielsweise Proteasen, und dem Adsorbens versetzt und über

einen Zeitraum von 1 bis 24 h im Temperaturoptimum der eingesetzten Enzyme, beispielsweise bei 50 bis 70°C abgebaut. Wird der Aufschluß in Gegenwart von Calciumoxid bzw. -hydroxid als Base durchgeführt, bilden sich Calciumpeptide, die vom Rückstand abfiltriert werden müssen. Werden die Alkali-peptide gewünscht, empfiehlt es sich, die Calciumpeptide mit Soda- oder Pottaschelösung zu behandeln und das schwerlösliche Calciumcarbonat anschließend abzutrennen. Es ist ebenfalls möglich, das Calcium in Form von Calciumsulfat oder Calciumoxalat zu fällen. Die Abtrennung der schwerlöslichen Salze erfolgt vorzugsweise in Gegenwart von Filterhilfsmitteln über Filternutschen oder Filterpressen. Es werden wäßrige Proteinhydrolysatlösungen erhalten, die nach Bedarf beispielsweise unter Einsatz von Fallstromverdampfern aufkonzentriert werden können. Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen Hydrolysate weisen ein mittleres Molekulargewicht im Bereich von 100 bis 30.000, vorzugsweise 100 bis 10.000 und insbesondere 2000 bis 5000 auf sowie einen Feststoffgehalt von etwa 5 bis 50 Gew.-%.

#### Gewerbliche Anwendbarkeit

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen pflanzlichen Proteinhydrolysate zeichnen sich durch eine besonders vorteilhafte Farbqualität aus.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ihre Verwendung als Inhaltsstoffe oberflächenaktiver Mittel, beispielsweise als Schmutzdispergatoren in flüssigen Waschmitteln oder

die Hautverträglichkeit verbessernde Komponenten in kosmetischen Mitteln.

Ein letzter Gegenstand der Erfindung betrifft schließlich ihre Verwendung zur Herstellung von hellfarbigen pflanzlichen Folgeprodukten wie beispielsweise N-acylierten, N-alkylierten, veresterten sowie N-acylierten bzw. N-alkylierten und außerdem veresterten Proteinhydrolysaten.

Die folgenden Beispiele sollen den Gegenstand der Erfindung näher erläutern, ohne ihn darauf einzuschränken.

## Beispiele

### I. Herstellung der Proteinisolate

#### Beispiel 1:

In einem 10-m<sup>3</sup>-Rührkessel wurden 400 kg Sojamehl (Proteingehalt: ca. 48 Gew.-%) vorgelegt und in 4000 l Wasser suspendiert. Durch Zugabe von konz. Salzsäure wurde der pH-Wert der Lösung auf 2,5 abgesenkt, wobei das Protein in Lösung ging. Anschließend wurde die wäßrige Lösung vom Rückstand abgetrennt.

#### Beispiel 2:

Die wäßrige Proteinlösung aus Beispiel 1 wurde durch Zugabe von Natronlauge auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt und das Sojaprotein ausgefällt. Der Rückstand wurde mehrmals gewaschen, in Wasser redispergiert und durch Zugabe von Salzsäure (pH-Wert = 2,5) gelöst.

#### Beispiel 3:

Analog Beispiel 1 wurden 400 kg Mandelmehl (Proteingehalt ca. 42 Gew.-%) in 4000 l Wasser suspendiert, mit Salzsäure auf einen pH-Wert von 2 eingestellt und anschließend über einen Separator getrennt.

Beispiel 4:

Analog Beispiel 1 wurden 400 kg Weizenprotein (Proteingehalt ca. 40 Gew.-%) und 20 kg Aktivkohle in 4000 l Wasser suspendiert, mit Salzsäure auf einen pH-Wert von 2 eingestellt, 0,5 h bei 40°C gerührt und über einen Separator getrennt.

Beispiel 5:

Analog Beispiel 1 wurden 400 kg Kartoffelprotein (Proteingehalt ca. 45 Gew.-%) in 4000 l Wasser suspendiert, mit Salzsäure auf einen pH-Wert von 2 eingestellt und anschließend filtriert.

Beispiel 6:

Analog Beispiel 1 wurden 400 kg Sojamehl unter Zusatz von 20 kg Aktivkohle in 4000 l Wasser suspendiert, mit Natronlauge auf einen pH-Wert von 9 eingestellt und bei 45°C 1 h lang gerührt, wobei das Sojaprotein in Lösung ging. Anschließend wurde die wäßrige Lösung vom Rückstand über einen Separator abgetrennt. Der Rückstand wurde erneut extrahiert und die vereinigten Extrakte gemeinsam weiterverarbeitet.

Beispiel 7:

Die wäßrige Proteinlösung aus Beispiel 6 wurde durch Zugabe von Salzsäure auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt und das Sojaprotein ausgefällt. Der Rückstand wurde mehrmals gewaschen, in Wasser redispergiert und wiederum durch Zugabe von Natronlauge (pH-Wert 10) gelöst.

## II. Herstellung der Proteinhydrolysate

In einem 15-m<sup>3</sup>-Rührkessel wurden 9000 l Wasser vorgelegt und bei 55 bis 60°C mit 3 kg Natriumsulfit und 30 kg Aktivkohle versetzt. Anschließend wurden 1000 kg Sojaisolat (gemäß Beispiele 1 bis 8) zugesetzt und zu einer 10 Gew.-%igen Suspension verrührt. Danach wurde der pH-Wert der Reaktionsmischung durch Zugabe von Calciumoxid auf 9,5 eingestellt und 5 kg Alcalase zugegeben. Der enzymatische Abbau wurde bei 60°C über einen Zeitraum von 2 h durchgeführt.

Nach Abschluß des enzymatischen Hydrolyseschrittes wurde der pH-Wert der Mischung durch Zugabe von Salzsäure auf 4,2 eingestellt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf 80°C erhitzt, mit weiteren 10 kg Aktivkohle und 120 kg Filterhilfsmittel (Perlite(R) P50) versetzt und 30 min gerührt.

Anschließend wurde das Reaktionsprodukt über eine Filterpresse filtriert und das Filtrat mit Calciumoxid auf einen pH-Wert von 11,5 eingestellt. Nach einer Verweilzeit von 30 min bei 90°C wurde die Lösung filtriert, mit Sodalösung versetzt und die ausgefallenen Calciumsalze abermals über eine Filterpresse abgetrennt. Das Filtrat wurde in einem Fallstromverdampfer bis zu einem Gehalt von 41 % Brix aufkonzentriert und nach einer Lagerzeit von 3 Tagen abschließend blank filtriert.

Die Lovibond-Farbzahlen der Proteinhydrolysate wurden in einer 1-cm-Küvette gemäß DIN ISO 4630 nach 4-wöchiger Lagerung des Hydrolysates bei 40°C bestimmt. Als Vergleichswerte dienen die Farbzahlen von Hydrolysaten, die auf Basis der Iso-

late nach den Beispielen 1 bis 7, jedoch ohne Einsatz von Aktivkohle in der Extraktion und/oder Hydrolyse erhalten wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt:

Tabelle 1:

Bsp.	Isolat nach Beispiel	Extraktions- und Hydrolyseverfahren	<u>Farbzahl</u> Lovibond	
			rot	gelb
9	1	mit Aktivkohle	3,0	14,6
10	2	mit Aktivkohle	1,9	7,1
11	3	mit Aktivkohle	2,0	8,7
12	4	mit Aktivkohle	2,0	12,9
13	5	mit Aktivkohle	3,3	14,5
14	6	mit Aktivkohle	2,9	13,0
14	7	mit Aktivkohle	2,0	7,9
V1	1	ohne Aktivkohle	3,7	18,2
V2	2	ohne Aktivkohle	2,1	10,8
V3	3	ohne Aktivkohle	2,4	12,8
V4	4	ohne Aktivkohle	2,8	25,4
V5	5	ohne Aktivkohle	6,5	32,0
V6	6	ohne Aktivkohle	3,1	16,0
V7	7	ohne Aktivkohle	3,6	18,9



Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung hellfarbiger pflanzlicher Proteinhydrolysate, bei dem man
  - a) proteinhaltige Pflanzenmehle bei einem pH-Wert außerhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins gegebenenfalls in Gegenwart von Adsorbentien extrahiert und
  - b) den dabei gewonnenen Proteinextrakt in Gegenwart von Adsorbentien in an sich bekannter Weise alkalisch, sauer und/oder enzymatisch hydrolysiert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man Sojamehl, Mandelmehl, Getreidemehl und/oder Kartoffelmehl einsetzt.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die Extraktion bei einem pH-Wert unterhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins durchführt.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die Extraktion bei einem pH-Wert oberhalb des isoelektrischen Bereiches des Proteins durchführt.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß man die Extraktion mehrfach durchführt.

6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man die Extraktion in zwei Stufen, d.h. zunächst im alkalischen Bereich und dann im sauren Milieu oder umgekehrt durchführt.
7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man als Adsorbens Aktivkohle in Mengen von 0,1 bis 15 Gew.-% - bezogen auf den Stickstoffgehalt des Proteinisolates - einsetzt.
8. Verwendung der hellfarbigen pflanzlichen Proteinhydrolysate nach dem Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7 als Inhaltsstoffe für oberflächenaktive Mittel.
9. Verwendung der hellfarbigen pflanzlichen Proteinhydrolysate nach dem Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7 zur Herstellung von hellfarbigen pflanzlichen N-acylierten, N-alkylierten, veresterten sowie N-acylierten bzw. N-alkylierten und außerdem veresterten Proteinhydrolysaten.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-466524	15-01-92	CA-A-	2046459	14-01-92
		DE-D-	69103701	06-10-94
		DE-T-	69103701	22-12-94
		ES-T-	2063450	01-01-95
		JP-A-	4281752	07-10-92
-----				
EP-A-265099	27-04-88	DE-A-	3776261	05-03-92
		JP-A-	1020060	24-01-89
-----				
EP-A-495390	22-07-92	AU-B-	650314	16-06-94
		AU-A-	1023892	16-07-92
		CA-A-	2059014	15-07-92
		JP-A-	4365451	17-12-92
-----				
EP-A-575121	22-12-93	AU-B-	4002293	23-12-93
		BG-A-	97870	27-05-94
		CA-A-	2097864	17-12-93
		CN-A-	1085048	13-04-94
		CZ-A-	9301152	19-01-94
		HU-A-	65530	28-06-94
		JP-A-	6098696	12-04-94
		PL-A-	299346	10-01-94
		SI-A-	9300323	31-12-93
-----				
EP-A-424996	02-05-91	IT-B-	1238663	01-09-93

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017 no. 180 (C-1046) ,8 April 1993 & JP,A,04 335868 (KIKKOMAN CORP) 24 November 1992, see abstract & DATABASE WPI Week 9301 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 93-006221 & JP,A,04 335 868 (KIKKOMAN CORP) , 24 November 1992 see abstract ---	1,2,7
X	DATABASE WPI Week 7314 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 73-19518 & JP,A,48 010 543 (AZUMA H) , 1973 see abstract ---	1,7
A	EP,A,0 466 524 (PROTEIN TECHNOLOGIES INTERNATIONAL INC.) 15 January 1992 see page 2, line 32 - page 3; claims 1,6,7 ---	1,2,4-6, 8
A	EP,A,0 265 099 (AJINOMOTO INC.) 27 April 1988 see page 2; example 4 see page 3, line 11 - line 32 ---	1,2,7
A	EP,A,0 495 390 (CPC INTERNATIONAL INC.) 22 July 1992 see column 6, line 47 - line 50; claims 1,2,4,6,20; example 1 ---	1,2,7
A	EP,A,0 575 121 (ROHM AND HAAS COMPANY) 22 December 1993 see page 3 - page 4; claims 14,16,17 ---	1,7
A	EP,A,0 424 996 (PANZANI PONTE LIEBIG SPA) 2 May 1991 see column 1; claim 1 -----	1,2

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-466524	15-01-92	CA-A- 2046459	14-01-92
		DE-D- 69103701	06-10-94
		DE-T- 69103701	22-12-94
		ES-T- 2063450	01-01-95
		JP-A- 4281752	07-10-92
-----			
EP-A-265099	27-04-88	DE-A- 3776261	05-03-92
		JP-A- 1020060	24-01-89
-----			
EP-A-495390	22-07-92	AU-B- 650314	16-06-94
		AU-A- 1023892	16-07-92
		CA-A- 2059014	15-07-92
		JP-A- 4365451	17-12-92
-----			
EP-A-575121	22-12-93	AU-B- 4002293	23-12-93
		BG-A- 97870	27-05-94
		CA-A- 2097864	17-12-93
		CN-A- 1085048	13-04-94
		CZ-A- 9301152	19-01-94
		HU-A- 65530	28-06-94
		JP-A- 6098696	12-04-94
		PL-A- 299346	10-01-94
		SI-A- 9300323	31-12-93
-----			
EP-A-424996	02-05-91	IT-B- 1238663	01-09-93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP-A-466524	15-01-92	CA-A-	2046459	14-01-92
		DE-D-	69103701	06-10-94
		DE-T-	69103701	22-12-94
		ES-T-	2063450	01-01-95
		JP-A-	4281752	07-10-92
-----				
EP-A-265099	27-04-88	DE-A-	3776261	05-03-92
		JP-A-	1020060	24-01-89
-----				
EP-A-495390	22-07-92	AU-B-	650314	16-06-94
		AU-A-	1023892	16-07-92
		CA-A-	2059014	15-07-92
		JP-A-	4365451	17-12-92
-----				
EP-A-575121	22-12-93	AU-B-	4002293	23-12-93
		BG-A-	97870	27-05-94
		CA-A-	2097864	17-12-93
		CN-A-	1085048	13-04-94
		CZ-A-	9301152	19-01-94
		HU-A-	65530	28-06-94
		JP-A-	6098696	12-04-94
		PL-A-	299346	10-01-94
		SI-A-	9300323	31-12-93
-----				
EP-A-424996	02-05-91	IT-B-	1238663	01-09-93
-----				

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 IPK 6 A23J3/34 A23L1/015

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 6 A23J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE WPI Week 7543 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 75-71898 & SU, A, 441 915 (UKR MEAT DAIRY IND) , 15. Dezember 1974 siehe Zusammenfassung --- -/--	1,7

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nabeliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. Mai 1995

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

08.06.95

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Kanbier, D

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017 no. 180 (C-1046) ,8.April 1993 & JP,A,04 335868 (KIKKOMAN CORP) 24.November 1992, siehe Zusammenfassung & DATABASE WPI Week 9301 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 93-006221 & JP,A,04 335 868 (KIKKOMAN CORP) , 24.November 1992 siehe Zusammenfassung ---	1,2,7
X	DATABASE WPI Week 7314 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 73-19518 & JP,A,48 010 543 (AZUMA H) , 1973 siehe Zusammenfassung ---	1,7
A	EP,A,0 466 524 (PROTEIN TECHNOLOGIES INTERNATIONAL INC.) 15.Januar 1992 siehe Seite 2, Zeile 32 - Seite 3; Ansprüche 1,6,7 ---	1,2,4-6, 8
A	EP,A,0 265 099 (AJINOMOTO INC.) 27.April 1988 siehe Seite 2; Beispiel 4 siehe Seite 3, Zeile 11 - Zeile 32 ---	1,2,7
A	EP,A,0 495 390 (CPC INTERNATIONAL INC.) 22.Juli 1992 siehe Spalte 6, Zeile 47 - Zeile 50; Ansprüche 1,2,4,6,20; Beispiel 1 ---	1,2,7
A	EP,A,0 575 121 (ROHM AND HAAS COMPANY) 22.Dezember 1993 siehe Seite 3 - Seite 4; Ansprüche 14,16,17 ---	1,7
A	EP,A,0 424 996 (PANZANI PONTE LIEBIG SPA) 2.Mai 1991 siehe Spalte 1; Anspruch 1 -----	1,2



PC

# REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

Receiving Office use only <b>PCT/EP 99/07002</b> International Application No.	
<b>15 SEP 1999</b> International Filing Date	<b>(15. 09. 1999)</b>
<b>EUROPEAN PATENT OFFICE</b> <b>PCT INTERNATIONAL APPLICATION</b> Name of receiving Office and "PCT International Application"	
Applicant's or agent's file reference <b>99/105</b> (if desired) (12 characters maximum)	

<b>Box No. I TITLE OF INVENTION</b> <b>Process for producing peptides from biological fluids and peptides</b> (obtainable by said process)	
<b>Box No. II APPLICANT</b> Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)  <b>NIZO food research</b> <b>Kernhemseweg 2</b> <b>6718 ZB Ede (NL)</b>	
<input type="checkbox"/> This person is also inventor. Telephone No. <b>+31 318 659511</b> Facsimile No. <b>+31 318 650400</b> Teleprinter No.	
State (that is, country) of nationality: <b>NL</b>	State (that is, country) of residence: <b>NL</b>
This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input checked="" type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box	
<b>Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)</b> Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)  <b>VISSER, Servaas</b> <b>Irenelaan 39</b> <b>6713 ML Ede (NL)</b>	
This person is: <input type="checkbox"/> applicant only <input checked="" type="checkbox"/> applicant and inventor <input type="checkbox"/> inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)	
State (that is, country) of nationality: <b>NL</b>	State (that is, country) of residence: <b>NL</b>
This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input checked="" type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box	
<input checked="" type="checkbox"/> Further applicants and/or (further) inventors as indicated on a continuation sheet.	
<b>Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE</b> The person identified below is hereby has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: <input checked="" type="checkbox"/> agent <input type="checkbox"/> common representative	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)  <b>Huygens, Arthur V.</b> <b>Octrooibureau HUYGENS</b> <b>P.O. Box 86</b> <b>3400 AB IJsselstein (NL)</b>	
Telephone No. <b>+31 30 6883883</b> Facsimile No. <b>+31 30 6874295</b> Teleprinter No.	
<input type="checkbox"/> Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.	

## Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

RECIO, Isidra  
c/o KIZO food research  
Kernhemseweg 2  
6713 ZB Ede (NL)

This person is:

- ☐ applicant only  
☒ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

ES

State (that is, country) of residence:

NL

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only  
☐ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only  
☐ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only  
☐ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

**Box No. V DESIGNATION OF STATES**

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

**Regional Patent**

- ☒ **AP ARIPO Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☒ **EA Eurasian Patent:** AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ **EP European Patent:** AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ **OA OAPI Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line) .....

**National Patent** (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE United Arab Emirates                  | <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albania                               | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenia                               | <input checked="" type="checkbox"/> LT Lithuania                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Austria                               | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australia                             | <input checked="" type="checkbox"/> LV Latvia                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaijan                            | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republic of Moldova                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnia and Herzegovina                | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados                              | <input checked="" type="checkbox"/> MK The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgaria                              |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brazil                                | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolia                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus                               | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada                                | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexico                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI Switzerland and Liechtenstein  | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norway                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China                                 | <input checked="" type="checkbox"/> NZ New Zealand                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba                                  | <input checked="" type="checkbox"/> PL Poland                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Czech Republic                        | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Germany                               | <input checked="" type="checkbox"/> RO Romania                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Denmark                               | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russian Federation                        |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estonia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spain                                 | <input checked="" type="checkbox"/> SE Sweden                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finland                               | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapore                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB United Kingdom                        | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slovenia                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada                               | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slovakia                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana                                 | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tajikistan                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia                                | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Croatia                               | <input checked="" type="checkbox"/> TR Turkey                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Hungary                               | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesia                             | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel                                | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN India                                 | <input checked="" type="checkbox"/> US United States of America                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Iceland                               |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                                 | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Uzbekistan                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya                                 | <input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan                            | <input checked="" type="checkbox"/> YU Yugoslavia                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea | <input checked="" type="checkbox"/> ZA South Africa                              |
|  | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea                     |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakhstan                            |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia                           |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka                             |  |

Check-boxes reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

☒ TZ, AM, LR \*

**Precautionary Designation Statement:** In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

## Box No. VI PRIORITY CLAIM

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 15 SEP 1998 (15-09-98)	(EP) 98203107.2		EP (NL)	
item (2) 08 JUN 1999 (08-06-99)	(EP) 99201815.0		EP (NL)	
item (3)				

☒ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s): (1) and (2)

\* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(iii)). See Supplemental Box.

## Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA)  
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA/ EP

Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Reimbursement of search fee is hereby requested.  
Date (day/month/year) Number Country (or regional Office)

09-04-99

EP 98203107.2

EP

## Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains the following number of sheets:

request : 4  
description (excluding sequence listing part) : 20  
claims : 3  
abstract : 1  
drawings : 9  
sequence listing part of description : 3  
Total number of sheets : 40

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☐ fee calculation sheet
2. ☐ separate signed power of attorney (2x)
3. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
4. ☐ statement explaining lack of signature
5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6. ☐ translation of international application into (language):
7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9. ☐ other (specify):

Figure of the drawings which should accompany the abstract: none

Language of filing of the international application: EN

## Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

A.V. Huygens  
Dr. A.V. Huygens

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application: 15 SEP 1999 (15. 09. 1999)	2. Drawings: <input checked="" type="checkbox"/> received: <input type="checkbox"/> not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA/	
6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid.	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.

PCT/9/07002

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K1/12 C07K1/18 C07K7/08 C07K14/47 C07K14/79  
 A61K38/10 A61K38/01 C07K14/315 C07K1/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95 25437 A (HENKEL KGAA ; VON KRIES EDITH (DE); EILERS EBERHARD (DE); SANDER AN) 28 September 1995 (1995-09-28)	1-10
Y	abstract; claims	1-10
X	DATABASE WPI Section Ch, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 1973-19518U XP002128234 & JP 48 010543 B (AZUMA H)	1-10
Y	abstract	1-10

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 January 2000

Date of mailing of the international search report

28/01/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,  
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cervigni, S

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Application No  
 PCT 99/07002

## C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9201 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 92-002669 XP002097190 & JP 03 255095 A (KANEBO LTD), 13 November 1991 (1991-11-13) abstract	11-15
Y	—	1-10
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9621 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 96-205535 XP002097191 & JP 08 073499 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD), 19 March 1996 (1996-03-19) abstract	11,12,15
X	Z.-Y QIAN ET AL: "Isolation and characterisation of sheep lactoferrin, an inhibitor of platelet aggregation and comparison with human lactoferrin" BIOCHIMICA AND BIOPHYSICA ACTA, vol. 1243, 1995, pages 25-32, XP002098054 abstract page 31, column 1; figures 3,7	11,12,15
X	WO 97 16460 A (UNIV LIVERPOOL ; SMITH JOHN ARTHUR (GB); WILKINSON MARK CHARLES (GB) 9 May 1997 (1997-05-09)	11,12,15
Y	page 11, paragraph 1 - paragraph 2 abstract; claim 20; example 2	1-10
X	EP 0 519 726 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO LTD) 23 December 1992 (1992-12-23)	11,12,15
Y	abstract	1-10
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199722 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1997-241659 XP002128150 & JP 09 077681 A (NIPPON SEISHI KK), 25 March 1997 (1997-03-25)	11-13,15
Y	abstract	1-10
A	LEONIL J ET AL: "STUDY OF TRYPTIC HYDROLYSIS OF BOVINE B-CASEIN WITH THE AIM OF PREPARING PEPTIDES WITH BIOLOGICAL ACTIVITIES IN MEMBRANE REACTORS" COLLOQUES INSERM, vol. 174, 1989, pages 65-68, XP002030853	
	—	
	—/—	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No  
PCT/9/07002

## C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>EP 0 556 083 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD) 18 August 1993 (1993-08-18) abstract</p>	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. l. Application No

PCT 99/07002

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9525437 A	28-09-1995	DE 4410000 C	02-03-1995
JP 48010543 B	04-04-1973	NONE	
JP 3255095 A	13-11-1991	NONE	
JP 8073499 A	19-03-1996	NONE	
WO 9716460 A	09-05-1997	EP 0861265 A	02-09-1998
EP 0519726 A	23-12-1992	JP 5238948 A	17-09-1993
		AU 649142 B	12-05-1994
		AU 1839792 A	24-12-1992
		CA 2070882 A	22-12-1992
		DE 69219015 D	22-05-1997
		DE 69219015 T	24-07-1997
		DK 519726 T	12-05-1997
		NZ 243120 A	26-08-1994
		US 5317084 A	31-05-1994
JP 9077681 A	25-03-1997	NONE	
EP 0556083 A	18-08-1993	JP 5202098 A	10-08-1993
		AU 661090 B	13-07-1995
		AU 3205993 A	05-08-1993
		NZ 245789 A	26-07-1995
		US 5516675 A	14-05-1996



ONTVANGEN 16 DEC 2000

From the  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF  
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

To:

HUYGENS, Arthur V.  
OCTROOIBUREAU HUYGENS  
P.O. Box 86  
NL-3400 AB IJsselstein  
PAYS-BAS

Date of mailing  
(day/month/year)

13.12.2000

Applicant's or agent's file reference  
99/105

## IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.  
PCT/EP99/07002

International filing date (day/month/year)  
15/09/1999

Priority date (day/month/year)  
15/09/1998

Applicant

NIZO FOOD RESEARCH et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

## 4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

Name and mailing address of the IPEA/



European Patent Office  
D-80298 Munich  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized officer

Gallego, A

Tel. +49 89 2399-8102



# PATENT COOPERATION TREATY

# PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference <b>99/105</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div><b>FOR FURTHER ACTION</b></div> <div>See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)</div> </div>	
International application No. <b>PCT/EP99/07002</b>	International filing date (day/month/year) <b>15/09/1999</b>	Priority date (day/month/year) <b>15/09/1998</b>
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC <b>C07K1/12</b>		
Applicant <b>NIZO FOOD RESEARCH et al.</b>		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
  
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.
 

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 16 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I    ☒ Basis of the report
- II   ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV   ☐ Lack of unity of invention
- V    ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI   ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand  <b>13/04/2000</b>	Date of completion of this report  <b>13.12.2000</b>
Name and mailing address of the international preliminary examining authority: <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>             European Patent Office              D-80298 Munich              Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d              Fax: +49 89 2399 - 4465           </div> </div>	Authorized officer  <b>Jenn, T</b>  Telephone No. +49 89 2399 7348 <div style="text-align: right;"> </div>

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP99/07002

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of *(substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).):*

**Description, pages:**

13-23	as originally filed			
1-11	as received on	29/09/2000	with letter of	28/09/2000
12,12a-12b	as received on	29/11/2000	with letter of	28/11/2000

**Claims, No.:**

1-12	as received on	29/11/2000	with letter of	28/11/2000
------	----------------	------------	----------------	------------

**Drawings, sheets:**

1/9-9/9	as originally filed
---------	---------------------

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP99/07002

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description,      pages:
- ☐ the claims,      Nos.:
- ☐ the drawings,      sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

*(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)*

6. Additional observations, if necessary:

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-12
	No:	Claims	None
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	1-12
	No:	Claims	None
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-12
	No:	Claims	None

2. Citations and explanations  
**see separate sheet**

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:  
**see separate sheet**

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:  
**see separate sheet**

**Re Item V**

**Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Amended claims 1 to 10:

**Claims 1 to 10** meet the criteria for **novelty**, **inventive step**, and **industrial applicability** set out in PCT Article 33(2)-(4), because the prior art does not teach or fairly suggest a process comprising adsorbing proteins, contained in a biological fluid, on a chromatographic medium, subjecting said adsorbed material to hydrolysis, washing the medium to remove unbound material, and desorbing said remained substantially adsorbed peptide from said chromatographic medium. This process has industrial application for producing peptide fragments used for the preparation of pharmaceutical compositions.

2. Amended claims 11 and 12:

The 8 peptides disclosed in claim 11 and the derivatives thereof having a primary amide function at the carboxy end thereof are not anticipated by the available prior art, nor is their use in the preparation of pharmaceutical compositions. These new peptides have industrial application for the preparation of pharmaceutical compositions.

Therefore, the subject-matter of **claims 11 and 12** meet the criteria for **novelty**, **inventive step**, and **industrial applicability** set out in PCT Article 33(2)-(4).

**Re Item VII**

**Certain defects in the international application**

The attention of the Applicant is drawn to the following: The use of the expression "*incorporated by reference*" (page 4, line 13) is not allowed in some designated Contracting States. When entering the Regional/National phase, this expression should be deleted from the application (Rule 9.1.iv PCT).

**Re Item VIII**

**Certain observations on the international application**

1. With the expression "which derivatives do not interfere with any biological properties of the peptide", the claim 11 attempts to define the subject-matter in terms of the result to be achieved which merely amounts to a statement of the underlying problem: the man skilled in the art can not determine which feature makes said derivative of peptide interfere with said peptide's biological properties.
2. The imprecise statement in the description on page 12a, line 18 ("having an amide at the carboxy end thereof") implies that the subject-matter for which protection is sought may be different to that defined by the claims ("having a primary amide at the carboxy end thereof"), thereby resulting in lack of clarity (Article 6 PCT) when used to interpret them (see also the PCT Guidelines, III-4.3a).